



Efek minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dan cabe jawa
(*Piper retrofractum Vahl.*) terhadap jumlah eritrosit pada tikus yang
diberi diet kuning telur

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH
Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

disusun oleh:
OKTORIA INDRAPRAJA
G2A 005 149

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2009**

HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing, Laporan Akhir Penelitian Karya

Tulis Ilmiah atas nama mahasiswa:

Nama : Oktorina Indrapraja

NIM : G2A 005 149

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Diponegoro

Bagian : Biokimia

Judul : Efek minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dan cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl.*) terhadap jumlah eritrosit pada tikus yang diberi diet kuning telur

Pembimbing : dr. Andrew Johan, M.Si

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh

Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Semarang, 18 Agustus 2009

Pembimbing,

dr. Andrew Johan, M.Si

NIP. 131 673 427

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

Efek minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dan cabe jawa
(*Piper retrofractum Vahl.*) terhadap jumlah eritrosit pada tikus yang diberi diet
kuning telur

yang disusun oleh:

Oktoria Indrapraja

G2A 005 149

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas
Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 22 Agustus 2009 dan telah
diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI

Penguji,

Pembimbing,

dr. Kusmiyati DK, M.Kes
NIP. 131 252 961

dr. Andrew Johan, M.Si
NIP. 131 673 427

Ketua Penguji,

dr. Pudjadi, SU
NIP. 130 530 278

DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Halaman persetujuan.....	ii
Halaman pengesahan	iii
Daftar isi.....	iv
Daftar tabel.....	vii
Daftar gambar.....	viii
Daftar lampiran.....	ix
Abstrak.....	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	4
1.3. Tujuan penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan penelitian umum	4
1.3.2. Tujuan penelitian khusus	4
1.4. Manfaat penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Lipid	6
2.1.1. Definisi dan fungsi.....	6
2.1.2. <i>High Density Lipoprotein</i> (HDL)	8
2.1.3. <i>Low Density Lipoprotein</i> (LDL).....	8
2.1.4. Induksi hiperlipidemia	9

2.2. Radikal bebas.....	11
2.3. Eritrosit	13
2.4. Minyak atsiri	15
2.4.1. Bawang putih.....	16
2.4.2. Cabe jawa	17
2.5. Kerangka teori.....	19
2.6. Kerangka konsep.....	20
2.7. Hipotesis penelitian	20
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	21
3.1. Ruang lingkup penelitian.....	21
3.1.1. Tempat dan waktu penelitian	21
3.1.2. Lingkup ilmu	21
3.2. Rancangan penelitian	21
3.3. Alur penelitian	23
3.4. Subyek penelitian dan sampel.....	24
3.4.1. Subyek penelitian	24
3.4.2. Sampel.....	24
3.5. Variabel penelitian	24
3.5.1. Klasifikasi variabel.....	24
3.5.2. Definisi operasional variabel.....	24
3.5.3. Kriteria inklusi.....	25
3.5.4. Kriteria eksklusi.....	25
3.6. Alat dan bahan	25

3.6.1. Alat	25
3.6.2. Bahan	26
3.7. Prosedur perlakuan sampel.....	26
3.7.1. Diet kuning telur.....	26
3.7.2. Pemberian minyak atsiri bawang putih.....	26
3.7.3. Pemberian minyak atsiri cabe jawa	27
3.7.4. Pemberian perlakuan.....	28
3.8. Prosedur pengukuran jumlah eritrosit	29
3.9. Analisis data.....	29
3.9.1. Analisis deskriptif.....	30
3.9.2. Analisis analitik.....	30
BAB 4 HASIL	31
BAB 5 PEMBAHASAN	35
BAB 6 KESIMPULAN & SARAN.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil analisis data penelitian	31
Tabel 2. Hasil analisis data perbandingan antar kelompok.....	33
Tabel 3. Hasil pemeriksaan jumlah eritrosit serum tikus wistar	44
Tabel 4. Hasil validitas data	45
Tabel 5. Hasil analisis deskriptif data.....	45
Tabel 6. Uji normalitas data	47
Tabel 7. Uji <i>One Way Anova</i>	47
Tabel 8. Uji <i>Post Hoc</i>	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Boxplot rerata jumlah eritrosit	32
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis data	44
Lampiran 2. Prosedur penyulingan minyak atsiri.....	49

Efek minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dan cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) terhadap jumlah eritrosit pada tikus yang diberi diet kuning telur

Oktoria Indrapraja^{a)}, Andrew Johan^{b)}

ABSTRAK

Latar belakang: Bawang putih (*Allium sativum*) dan cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) memiliki efek antioksidan dan dalam bentuk minyak atsiri dapat menurunkan kadar profil lipid dalam darah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit pada serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

Metoda. Penelitian eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Sampel terdiri dari 25 tikus wistar jantan 8 minggu yang secara random dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kontrol negatif/K- (diet standar), kontrol positif/K+ (diet kuning telur), perlakuan 1/P₁ (diet kuning telur & minyak atsiri bawang putih), perlakuan 2/P₂ (diet kuning telur & minyak atsiri cabe jawa), dan perlakuan 3/P₃ (diet kuning telur & kombinasi minyak atsiri bawang putih & cabe jawa). Dosis minyak atsiri yang diberikan sebanyak 0,05 ml. Data diperoleh dari pemeriksaan jumlah eritrosit serum. Data diuji dengan *One Way Anova*.

Hasil: Jumlah eritrosit serum kelompok P₃ ($7,612 \pm 0,628$) lebih tinggi dari P₁ ($6,854 \pm 0,351$); P₂ ($6,288 \pm 0,546$); dan K- ($7,488 \pm 0,218$), tetapi lebih rendah dari K+ ($8,012 \pm 0,271$). Uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p=0,000$, $p>0,005$).

Kesimpulan: Jumlah eritrosit serum pada tikus yang hanya diberi diet standar, diet kuning telur, dan diet kuning telur & kombinasi minyak atsiri bawang putih & cabe jawa lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan tikus yang diberi diet kuning telur & pemberian tunggal minyak atsiri (bawang putih/cabe jawa).

Kata kunci: *Allium sativum*, *Piper retrofractum* Vahl. , minyak atsiri, jumlah eritrosit serum

a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

b) Dosen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

*The effect of essential oils from garlic (*Allium sativum*) and long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) on total eritrocytes count in rats serum which have received egg yolk diet*

Oktoaria Indrapraja^{a)}, Andrew Johan^{b)}

ABSTRACT

Background: Garlic (*Allium sativum*) and long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) have antioxidant effect and in form of essential oils these plants have been reported could reduce blood lipid fraction level. The objective of this study is to investigate the effect of combination of essential oils from garlic and long pepper on total eritrocytes count in rats serum which have received egg yolk diet.

Methods: This was an experimental study with parallel group post test only design. The sample were 25 male aged 8 weeks Wistar, that randomly divided into 5 groups; negative control/C- (standard diet), positive control/C+ (egg yolk diet), and treatment group 1/T₁ (egg yolk diet & essential oils from garlic), treatment group 2/T₂ (egg yolk diet & essential oils from long pepper) and treatment group 3/T₃ (egg yolk diet & combination of essential oils from garlic & long pepper). The dose of essential oils was 0,05 ml. The data were total eritrocytes count. The data were tested by One Way Annova.

Results: The total eritrocytes count of treatment group T₃ ($7,612 \pm 0,628$) is more than T₁ ($6,854 \pm 0,351$); T₂ ($6,288 \pm 0,546$); and C- ($7,488 \pm 0,218$), but lower than C+ ($8,012 \pm 0,271$). One Way Annova test showed that there were significant difference among control and treatment groups ($p=0,000, p>0,005$).

Conclusion: The total eritrocytes count in rats which have received standard diet, egg yolk diet, and egg yolk diet & combination of essential oils from garlic & long pepper were significantly more than the total eritrocytes count in rats which have received egg yolk & single essential oils (garlic/long pepper).

Key words: *Allium sativum*, *Piper retrofractum* Vahl., essential oils, total eritrocytes count

a) Student of medical Faculty Diponegoro University, Semarang

b) Lecturer Biochemistry department of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Pola hidup manusia sekarang yang sangat dinamis menyebabkan masyarakat terjebak dalam pola hidup yang serba instant dan tidak sehat. Kebiasaan merokok dan kecenderungan untuk mengonsumsi makanan berkolesterol tinggi dapat menyebabkan timbulnya gangguan metabolisme lemak sehingga terjadi hiperlipidemia. Hiperlipidemia berkaitan dengan insiden aterosklerosis dan penyakit jantung koroner.¹ Untuk membuat model aterosklerosis dengan alat, bahan dan metode yang mudah, murah dan cepat digunakan tikus wistar yang diberi diet kuning telur. Pemberian diet kuning telur dapat meningkatkan kadar profil lipid terutama kadar kolesterol total dan trigliserida, sedangkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) hanya mengalami sedikit peningkatan.²

Peningkatan kadar kolesterol total serum merupakan salah satu indikator adanya kerusakan jaringan tubuh akibat radikal bebas. Kolesterol yang teroksidasi dapat mencetuskan radikal bebas, dan terikat pada kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL). Radikal bebas dapat merusak semua bagian pokok sel. Radikal bebas juga mengganggu produksi normal DNA, mempengaruhi pembuluh darah, memproduksi prostasiklin, dan merusak lipid pada membran sel.³

Eritrosit adalah cakram bikonkaf tak berinti. Fungsi utama eritrosit adalah membawa O₂ ke jaringan dan mengembalikan CO₂ dari jaringan ke paru. Membran eritrosit terdiri atas lipid dua lapis (*lipid bilayer*), protein membran integral, dan suatu rangka membran.⁴ Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas. Proses tersebut dinamakan peroksidasi lipid.³ Peroksidasi molekul lemak selalu mengubah atau merusak struktur molekul lemak. Peroksidasi lipid akibat radikal bebas pada membran eritrosit akan mengakibatkan membran eritrosit lisis.⁵

Aterosklerosis sebenarnya bersifat reversibel, dapat menipis kembali apabila kadar kolesterol dalam darah berhasil dikontrol dengan baik, terutama menurunkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) plasma dan meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) plasma.^{1,6} Salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan memanfaatkan berbagai bahan tradisional. Pengobatan tradisional di Indonesia telah dilakukan sejak zaman dahulu. Ini disebabkan karena di Indonesia banyak sekali terdapat tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan baku alami untuk pengobatan. Badan Pengawasan Obat dan Makanan telah menetapkan sembilan tanaman obat unggulan yang telah diuji secara klinis. Sembilan tanaman obat tersebut adalah: sambiloto, jambu biji, jati belanda, cabe jawa, temulawak, jahe merah, kunyit, mengkudu, dan salam.⁷

Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) merupakan simplisia yang banyak digunakan dalam ramuan jamu dan obat tradisional.⁸ Bagian yang bermanfaat adalah buahnya yang mengandung minyak atsiri, piperina, piperidina, asam palmitat, asam tetrahidropiperat, undecylenyl 3-4 methylenedioxy benzene, N

isobutyldeca-trans-2-trans-4-dienamide, dan sesamin.^{9,10} Minyak atsiri cabe jawa diduga dapat menurunkan kolesterol dengan memberikan umpan balik negatif yang juga dapat menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase.⁷ Cabe jawa juga mampu melindungi lemak dalam darah dari kerusakan akibat radikal bebas. Dari penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa kecepatan oksidasi kolesterol dan trigliserida akibat radikal bebas pada kelompok yang diberi diet mengandung cabe jawa lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberi diet tanpa mengandung cabe jawa.¹¹

Bawang putih (*Allium sativum*) telah lama dikenal memiliki banyak efek positif bagi tubuh manusia, di antaranya adalah sebagai antioksidan, antibakteri, antikarsinogenik, mengurangi agregasi platelet, meningkatkan aktifitas fibrinolitik, dan antihiperlipidemia.^{12,13,14,15} Bawang putih mengandung air, protein, lemak, hidrat arang, selenium, mangan, sulfur, vitamin B₁, vitamin B₆, vitamin C, kalsium, fosfor, scordinin, allicin, saltivine, dan sinistrine.^{12,15,16} Minyak atsiri bawang putih dengan kandungan *diallyl disulphide* (DADS) mampu menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase.¹³ Bawang putih juga mempunyai efek menurunkan jumlah radikal bebas dalam darah. Dari penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa konsumsi ekstrak bawang putih 1 mg/kg berat badan selama 6 bulan mampu mereduksi radikal bebas dalam darah pada pasien aterosklerosis.¹⁵

Berdasarkan fakta-fakta tersebut peneliti tertarik untuk membuktikan pengaruh pemberian kombinasi minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe

jawa dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit pada serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

1.2. Rumusan masalah

Apakah pemberian minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dan minyak atsiri cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl.*) mampu menghambat penurunan jumlah eritrosit pada serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan penelitian umum

Membuktikan pengaruh pemberian minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit pada serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

1.3.2. Tujuan penelitian khusus

- a. Menghitung jumlah eritrosit serum tikus wistar yang hanya diberi diet standar.
- b. Menghitung jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur.
- c. Menghitung jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberi minyak atsiri bawang putih.
- d. Menghitung jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberi minyak atsiri cabe jawa.
- e. Menghitung jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberi minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa.

- f. Membandingkan jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberikan minyak atsiri bawang putih dengan tikus wistar yang diberi diet kuning telur.
- g. Membandingkan jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberikan minyak atsiri cabe jawa dengan tikus wistar yang diberi diet kuning telur.
- h. Membandingkan jumlah eritrosit serum tikus wistar setelah diberi diet kuning telur dan diberikan minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa dengan tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

1.4. Manfaat Penelitian

- a. Diharapkan dapat membuktikan potensi minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa terhadap jumlah eritrosit.
- b. Diharapkan dapat memberikan landasan dalam pembuatan produk dari minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa.
- c. Diharapkan dapat memberikan landasan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lipid

2.1.1. Definisi dan fungsi

Lipid (Yunani: lipos = hewan) adalah senyawa biomolekul yang tidak dapat larut dalam air, tetapi dapat diekstraksi dengan pelarut organik, seperti eter, benzene, kloroform, dan tetraklormetana.^{17,18} Di dalam tubuh, lemak berfungsi sebagai sumber energi yang efisien, penyekat panas di dalam jaringan subkutan dan di sekeliling organ tertentu, serta sebagai penyekat listrik yang memungkinkan perambatan gelombang depolarisasi secara cepat di sepanjang serabut saraf bermielin. Lemak merupakan struktur penting pembentuk sel, yang terdapat baik di dalam membran sel maupun mitokondria yang ada dalam sitoplasma.¹⁸

Lipid merupakan konstituen diet yang penting karena nilai energinya yang tinggi dan karena adanya vitamin larut lemak dan asam lemak esensial dalam lemak makanan.¹⁸ Lemak mengandung lebih sedikit oksigen sehingga mengalami reduksi lebih besar dan menghasilkan energi lebih banyak sewaktu dioksidasi. Lemak dalam makanan terutama adalah triasilgliserol (trigliserida). Triasilgliserol merupakan ester dari alkohol gliserol dengan asam lemak. Triasilgliserol dalam jaringan adiposa merupakan simpanan bahan bakar yang efisien. Oksidasi sempurna triasilgliserol menjadi CO₂ dan H₂O dalam tubuh

menghasilkan energi sekitar 9 kkal/g. Triasilgliserol dalam makanan mengalami emulsifikasi di usus dengan garam empedu. Lipase pankreas mengubah triasilgliserol dalam lumen usus menjadi asam lemak dan 2-monoasilgliserol. Produk-produk ini berinteraksi dengan garam empedu untuk membentuk butir-butir mikro yang disebut *micelles*, dan produk-produk tersebut diserap ke dalam sel epitel usus. Di dalam sel-sel tersebut, asam lemak dan 2-monoasilgliserol disintesis menjadi triasilgliserol, yang kemudian dikemas dengan protein, fosfolipid, kolesterol, dan senyawa lain menjadi kompleks lipoprotein yang dikenal sebagai kilomikron, yang disekresikan ke dalam limfe dan akhirnya masuk ke dalam aliran darah.¹⁹

Kolesterol merupakan komponen struktural esensial yang membentuk membran sel dan lapisan eksterna lipoprotein plasma, dapat dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesteril. Ester kolesteril merupakan bentuk penyimpanan kolesterol yang ditemukan pada sebagian besar jaringan tubuh. Kolesterol juga mempunyai makna penting karena menjadi prekursor sejumlah besar senyawa steroid, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D.¹⁸

Lipid tidak dapat larut dalam plasma darah, sehingga lipid terikat pada protein sebagai mekanisme transport dalam serum. Ikatan ini menghasilkan empat kelas utama lipoprotein yaitu kilomikron, *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan *High Density Lipoprotein* (HDL).^{18,20} Lipoprotein mengangkut kolesterol bebas di dalam sirkulasi darah untuk mengimbangi unsur kolesterol pada lipoprotein lainnya dan membran sel.¹⁸

2.1.2. High Density Lipoprotein (HDL)

High Density Lipoprotein (HDL) disebut juga α -lipoprotein.¹⁸ HDL merupakan molekul lipoprotein paling kecil dengan diameter 8-11 nm, mempunyai berat jenis paling besar karena proporsi proteinnya paling tinggi.²¹ HDL disintesis dan disekresi oleh hati dan intestinum.¹⁸ HDL berperan pada proses *reverse cholesterol transport* atau pengangkutan balik kolesterol, dimana HDL dapat meningkatkan efluks kelebihan kolesterol dari jaringan perifer dan mengembalikan ke hati untuk diekskresikan melalui empedu.^{18,19,22} Konsentrasi HDL berhubungan secara terbalik dengan insiden aterosklerosis koroner. Keadaan tersebut terjadi karena konsentrasi HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan.¹⁸

Fungsi HDL lainnya adalah memindahkan protein ke lipoprotein lain, mengambil kolesterol dari lipoprotein lain dan dari permukaan sel, mengubah kolesterol menjadi ester kolesterol melalui reaksi *Lecitin-cholesterol acyltransferase* (LCAT).¹⁹ HDL diduga memiliki efek antiaterogenik, antioksidan, dan antiinflamasi dengan menghambat oksidasi LDL, menghambat inflamasi endotel, meningkatkan produksi nitrit oksida endotel, meningkatkan bioavailabilitas prostasiklin, menghambat koagulasi dan agregasi platelet, serta melindungi eritrosit terhadap aktivitas prokoagulan.^{21,22}

2.1.3. Low Density Lipoprotein (LDL)

Low Density Lipoprotein (LDL) adalah jenis lipoprotein yang mengangkut kolesterol dan trigliserida. Partikel LDL mempunyai diameter 22 nm, mempunyai densitas 1,063-1,019 dan mengandung molekul apolipoprotein B-100

(Apo B-100, protein dengan 4536 residu asam amino).²³ LDL dihasilkan di dalam darah. Partikel LDL memiliki persentase (dalam berat) kolesterol dan ester kolesterol yang tinggi, lebih dari lipoprotein darah lainnya. Namun, kadar triasilgliserol LDL rendah karena LDL dibentuk melalui digesti triasilgliserol pada *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dan *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL). LDL diserap oleh hati melalui proses endositosis yang dibantu oleh reseptor. Bertambahnya jumlah reseptor menyebabkan peningkatan penyerapan kolesterol LDL dari darah. LDL juga mengalami endositosis oleh sel perifer untuk memberi sel tersebut kolesterol.¹⁹

2.1.4. Induksi hiperlipidemia

Hiperlipidemia (hiperlipoproteinemia, dislipidemia)¹ adalah peningkatan kadar kolesterol dan atau trigliserida serum di atas batas normal.²⁰ Kadar lipid sebenarnya sulit dipatok pada satu angka sebab normal untuk seseorang belum tentu normal untuk orang lain.²⁴ Kadar lipid yang berlebihan akan menginduksi aktivasi sel endotel vaskuler, yang pada gilirannya dapat mengakibatkan disfungsi endotel dan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), penurunan produksi Nitrit Oksida (NO), dan oksidasi LDL melalui peningkatan substrat, perubahan konformasi LDL yang lebih rentan terhadap oksidasi, dan peningkatan produksi radikal superoksida (O_2^-) vaskuler.^{2,25}

Lipoprotein yang memiliki Apo-B 100 (VLDL, IDL, LDL) bila terdapat dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang lama dapat menimbulkan deposisi kolesterol dan ester kolesterol pada jaringan ikat dinding pembuluh arteri.¹⁸ Jaringan otot halus dan jaringan fibrosa di sekitarnya akan berproliferasi

membentuk plak. Dengan berjalannya waktu, plak akan bertambah besar. Plak yang bertambah besar ditambah dengan garam kalsium yang ikut mengendap akan menyebabkan aterosklerosis.²⁰

Aterosklerosis merupakan penyakit inflamasi.⁶ Tingginya kadar kolesterol dalam darah terutama kadar LDL merupakan salah satu faktor resiko terjadinya aterosklerosis. Patogenesis aterosklerosis dimulai ketika terjadi jejas (akibat berbagai faktor risiko dalam berbagai intensitas dan lama paparan yang berbeda) pada endotel arteri yang mengakibatkan disfungsi endotel dan meningkatnya permeabilitas terhadap monosit dan lipid darah, sehingga terjadi penebalan tunika intima dan penimbunan lipid di dinding arteri.^{6,20} Sel endotel dinding arteri dapat mengalami cedera, baik secara mekanis maupun karena bahan-bahan sitotoksik, termasuk LDL teroksidasi. Daerah yang cedera terpajan ke darah dan menarik monosit, yang akan berubah menjadi makrofag dan memakan bahan-bahan di sekitarnya (termasuk LDL teroksidasi). Akibat dipenuhi oleh lemak, sel tersebut berubah menjadi sel busa yang tertimbun dan menimbulkan *fatty streak* di dalam dinding pembuluh darah.^{6,19,20}

Induksi hiperlipidemia pada binatang coba (tikus Wistar) dapat dilakukan dengan pemberian diet kuning telur *intermitten*. Penggunaan tikus Wistar mempertimbangkan aspek kemudahan dalam mendapatkan model binatang, kemampuan adaptasinya terhadap teknik perlakuan, serta lebih murah. Peningkatan kadar profil lipid dapat terlihat secara nyata setelah pemberian diet kuning telur *intermitten*, terutama kadar kolesterol total dan trigliserida. Kadar LDL hanya mengalami sedikit peningkatan, yaitu sebesar 1%.²

2.2. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya.^{3,5} Radikal dapat merusak semua bagian pokok sel. Radikal bebas juga mengganggu produksi normal DNA, merusak lipid pada membran sel & lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan memproduksi prostasiklin.³ Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*), termasuk didalamnya adalah triplet ($3O_2$), singlet (1O_2), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorit ($HOCl$), hydrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxyl (RO^-), peroksida lipid ($LOOH$), dan radikal peroksil (ROO^-).^{3,5,19}

Radikal bebas diproduksi dalam sel melalui reaksi pemindahan elektron, menggunakan mediator enzimatik atau non enzimatik. Produksi radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara rutin maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. Secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa seperti ribonukleotida reduktase, sedangkan pembentukan melalui rangsangan adalah kebocoran superoksida, hydrogen peroksida, dan kelompok oksigen reaktif lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktivasi. Pada keadaan normal, sumber utama radikal bebas adalah kebocoran elektron yang terjadi dari rantai transport elektron, misalnya yang ada dalam mitokondria dan retikulum endoplasma dan molekul oksigen yang menghasilkan superoksida.³

Radikal bebas sangat reaktif, mempunyai spesifitas rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat,

dan DNA.^{3,19} Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas. Proses tersebut dinamakan peroksidasi lipid.³ Peroksidasi biasanya dimulai dengan ekstraksi atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap terkonjugasi dalam asam lemak. Asam lemak utama yang mengalami peroksidasi lipid di dalam membran sel adalah asam lemak *polyunsaturated*. Peroksidasi molekul lemak selalu mengubah atau merusak struktur molekul lemak. Apabila lemak yang rusak adalah konstituen suatu membran biologis, susunan lapisan ganda lemak yang kohesif akan terganggu.¹⁹ Peroksidasi lipid akibat radikal bebas pada membran eritrosit akan mengakibatkan membran eritrosit lisis.⁵

Produksi radikal bebas meningkat pada hiperkolesterolemia yang diyakini dapat mengganggu fungsi endotel. Hal penting mengenai endotel antara lain; 1) mengandung reseptor untuk LDL dan bekerja sebagai sawar dengan permeabilitas yang sangat selektif, 2) memberikan permukaan nontrombogenik oleh lapisan heparin dan oleh sekresi PGI₂ serta oleh sekresi plasminogen, 3) mensekresi nitrit oksida/NO, dan 4) berinteraksi dengan trombosit, monosit, makrofag, limfosit T, dan sel-sel otot polos melalui berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan. Radikal bebas tersebut akan menonaktifkan nitrit oksida yang merupakan faktor *endothelial-relaxing* utama.²⁰

Apabila terjadi hiperlipidemia kronis, lipoprotein tertimbun dalam lapisan intima di tempat meningkatnya permeabilitas endotel. Pemajanan terhadap radikal bebas dalam sel endotel dinding arteri menyebabkan terjadinya oksidasi LDL, yang diperkuat oleh kadar HDL yang rendah.²⁰ Oksidasi LDL dapat

mencetuskan proses inflamasi melalui aktivasi *Nuclear transcription factor* (NF) *kappa-B*, yang akan mencetuskan pembentukan sitokin inflamasi dan molekul adhesi melalui jalur redoks-sensitif. Pelepasan mediator inflamasi dapat mengaktifkan produksi ROS yang mempunyai dampak buruk terhadap fungsi endotel.²⁵

2.3. Eritrosit

Setiap orang memproduksi sekitar 10^{12} eritrosit baru setiap hari melalui proses eritropoiesis yang kompleks dan teratur dengan baik. Eritropoiesis berjalan dari sel induk melalui sel progenitor CFU_{GEMM} (*colony-forming unit granulocyte, erythroid, monocyte and megakaryocyte*), BFU_E (*burst-forming unit erythroid*) dan CFU_E (*colony-forming unit erythroid*) menjadi prekursor eritrosit yang dapat dikenali pertama kali di sumsum tulang yaitu pronormoblas. Satu pronormoblas biasanya menghasilkan 16 eritrosit matur. Eritrosit matur yang berwarna merah muda seluruhnya, adalah cakram bikonkaf tak berinti. Eritropoiesis diatur oleh hormon eritropoietin. Eritropoietin merangsang eritropoiesis dengan meningkatkan jumlah sel progenitor yang terikat untuk eritropoiesis.⁴

Fungsi utama eritrosit adalah membawa O₂ ke jaringan dan mengembalikan CO₂ dari jaringan ke paru. Untuk mencapai pertukaran gas ini, eritrosit mengandung protein khusus yaitu hemoglobin. Untuk mengangkut hemoglobin agar berkontak erat dengan jaringan dan agar pertukaran gas berhasil, eritrosit yang berdiameter 8 µm harus dapat secara berulang melalui mikrosirkulasi yang diameter minimumnya 3,5 µm. Masa hidup eritrosit adalah 120 hari. Eritrosit adalah cakram bikonkaf yang fleksibel dengan kemampuan

menghasilkan energi sebagai ATP melalui jalur glikolisis anaerob (Embden-Meyerhof) dan menghasilkan kekuatan pereduksi sebagai NADH melalui jalur tersebut serta sebagai NADPH melalui jalur lintas fosfat.⁴

Membran eritrosit terdiri atas lipid dua lapis (*lipid bilayer*), protein membran integral, dan suatu rangka membran. Sekitar 50% membran adalah protein, 40% lemak, 10% karbohidrat. Lipid dua lapis terutama terdiri dari fosfolipid, yang tersusun dengan kepala hidrofiliknya menghadap lingkungan cair di kedua sisi membran dan ekor asil lemak membentuk bagian tengah membran yang hidrofobik.¹⁸ Karbohidrat hanya terdapat pada permukaan luar sedangkan protein dapat di perifer atau integral, menembus lipid dua lapis.²⁵ Rangka membran terbentuk oleh protein-protein struktural yang mencakup spektrin α dan β , ankirin, protein 4.1, dan aktin. Protein-protein tersebut membentuk jaring horizontal pada sisi dalam membran eritrosit dan penting untuk mempertahankan bentuk bikonkaf. Perubahan komposisi lipid akibat kelainan kongenital atau didapat dalam kolesterol atau fosfolipid plasma dapat disertai dengan kelainan membran.⁴

Eritrosit mengeluarkan superoksida melalui *superoksida dismutase*, yang mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida. *Glutation peroksidase* mereduksi hidrogen peroksida menjadi H_2O dan mengoksidasi glutation menjadi bentuk disulfida. Hemoglobin mengalami pengikatan silang oleh ikatan disulfida yang menyebabkan terbentuknya jembatan yang mengalami oksidasi lebih lanjut, dan struktur yang terbentuk di membran sel darah merah disebut badan Heinz. Dalam keadaan normal, eritrosit harus mengalami cacat bentuk (deformasi) untuk

dapat mengalir dalam sistem pembuluh darah halus. Dengan adanya badan Heinz, membran sel tidak dapat mengalami deformasi dan mudah mengalami kerusakan atau lisis, terutama apabila membran sel mengalami kerusakan oksidatif akibat spesies oksigen reaktif (ROS).¹⁹ Keadaan tersebut dinamakan stres oksidatif dan dapat mengakibatkan kerusakan sel yang berat jika stres tersebut masif atau berlangsung lama.¹⁸

2.4. Minyak atsiri

Minyak atsiri (*essensial oil*, eteris, minyak terbang, *volatile oil*) adalah cairan pekat yang tidak larut air, mengandung senyawa-senyawa beraroma yang berasal dari berbagai tanaman. Minyak tersebut dapat dihasilkan dari tiap bagian tanaman (daun, bunga, buah, biji, batang/kulit, dan akar). Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar, rasa getir, berbau wangi sesuai dengan tanaman penghasilnya, dan larut dalam pelarut organik. Sifat minyak atsiri ditentukan oleh persenyawaan kimia yang terdapat di dalamnya, terutama persenyawaan tak jenuh (terpena), ester, asam, dan aldehida serta beberapa jenis persenyawaan lainnya. Perubahan sifat kimia minyak atsiri dapat dipengaruhi oleh beberapa proses, antara lain oksidasi, hidrolisa polimerisasi (resinifikasi), dan penyabunan.²⁶

Pada umumnya minyak atsiri diperoleh dengan penyulingan menggunakan uap (hidrosetilasi). Penyulingan adalah pemisahan komponen-komponen suatu campuran dari dua jenis cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap dari masing-masing zat tersebut. Dalam industri minyak atsiri dikenal tiga macam metode penyulingan, yaitu:

1. Penyulingan dengan air (water destilation). Bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam sempurna tergantung dari bobot jenis dan jumlah bahan yang disuling. Air dipanaskan dengan metode pemanasan yaitu panas langsung, mantel uap, pipa uap melingkar tertutup, atau memakai pipa uap berlingkar terbuka dan berlubang.
2. Penyulingan dengan air dan uap (water and steam destilation). Bahan diletakkan diatas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dipanaskan dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas dari metode ini: 1) uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas. 2) bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas.
3. Penyulingan dengan uap (steam destilation), metode ini prinsipnya sama dengan di atas kecuali air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap kelewat panas pada tekanan lebih dari 1 atmosfer. Uap dialirkan melalui pipa uap berlingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan, dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan.²⁷

2.4.1. Bawang putih (*Allium sativum*)

Bawang putih (*Allium sativum*) termasuk famili *Amaryllidaceae*, golongan *Spermatophyta*, subgolongan *Angiospermae*, ordo *lilliflorae*, dan kelas *monocotyledone* (tanaman berkeping satu). Bawang putih 100 gram mengandung air 66,2-71,0 g, kalori 95,0-122 kal, kalsium 26-42 mg, saltivine, sulfur 60-120 mg, protein 4,5-7 g, lemak 0,2-0,3 g, karbohirat 23,1-24,6 g, fosfor 15-109 mg,

besi 1,4-1,5 mg, vitamin A,B,C, kalium 346-377 mg, selenium, mangan, dan scordinin.¹⁶ Bawang putih mengandung minyak atsiri yang mudah menguap di udara bebas. Minyak atsiri bawang putih dengan kandungan *diallyl disulphide* (DADS) mampu menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase.¹³

Dengan mengkonsumsi bawang putih secara rutin akan merangsang produksi nitrit oksida pada sel endotel dinding pembuluh darah. Bawang putih juga mempunyai efek menurunkan jumlah radikal bebas dalam darah. Dari penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa konsumsi ekstrak bawang putih 1 ml/kg berat badan selama 6 bulan mampu mereduksi jumlah radikal bebas dalam darah pada pasien dengan aterosklerosis. Kandungan selenium dalam bawang putih berfungsi sebagai kofaktor *glutation peroksidase* yang mereduksi hidrogen peroksida menjadi H₂O dan mengoksidasi glutathione menjadi bentuk disulfida. Kandungan mangan dalam bawang putih juga berfungsi sebagai kofaktor *superoksida dismutase* yang mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida.¹⁵ Bawang putih mengandung vitamin C, suatu antioksidan yang larut dalam air yang mampu melindungi LDL dari reaksi oksidasi, menurunkan adhesi monosit terhadap sel endotel, dan mengurangi inaktivitas nitrit oksida.^{15,25}

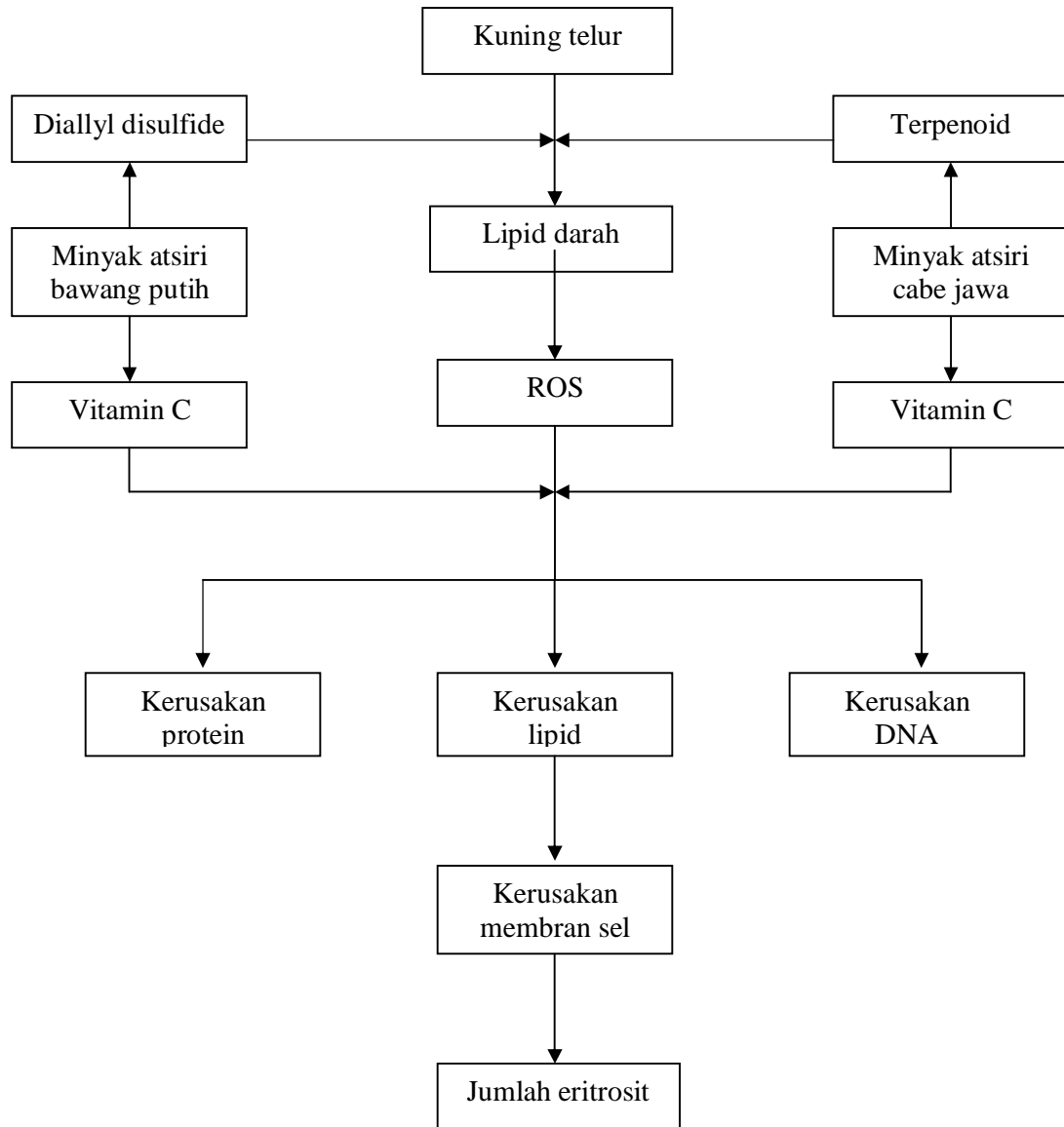
2.4.2. Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.)

Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dikenal juga dengan nama cabe jamu, termasuk divisi *Spermatophyta*, subdivisi *Angiospermae*, kelas *Dicotyldone*, ordo *Piperales*, famili *Piperaceae*, genus *Piper*, dan spesies *Piper retrofractum* Vahl. Terdapat dua jenis cabe, yaitu: 1) *Piper officinarum* DC (*Piper retrofractum*

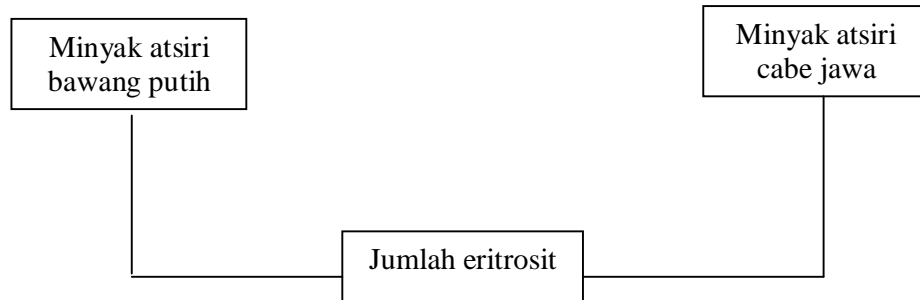
Vahl.) adalah suatu tumbuhan semak memanjat dan banyak, 2) *Piper longum L.* adalah suatu tumbuhan semak memanjat yang menyerupai *Piper orificinarum DC*, kecuali daunnya yang lebih lebar dan berbentuk jantung.¹⁰

Bagian yang bermanfaat adalah buahnya yang mengandung minyak atsiri, piperina, piperidina, asam palmitat, asam tetrahidropiperat, undecylenyl 3-4 methylenedioxy benzene, N isobutyldeca-trans-2-trans-4-dienamide, dan sesamin.^{9,10} Minyak atsiri cabe jawa mengandung terpenoid: n-oktanol, linanool, terpinil asetat, sitronelil asetat, piperin, alkaloid, saponin, polifenol, dan resin (kavisin). Minyak atsiri cabe jawa diduga dapat menurunkan kolesterol dengan memberikan umpan balik negatif yang juga dapat menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase.⁷ Cabe jawa juga mengandung vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu melindungi lemak dalam darah dari kerusakan akibat radikal bebas. Dari penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa kecepatan oksidasi kolesterol dan trigliserida akibat radikal bebas pada kelompok yang diberi diet mengandung cabe jawa lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberi diet tanpa mengandung cabe jawa.¹¹

2.5. Kerangka teori



2.6. Kerangka konsep



2.7. Hipotesis penelitian

Minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa mampu menghambat penurunan jumlah eritrosit pada serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Ruang lingkup penelitian

3.1.1. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 5 minggu. Pemeliharaan hewan coba, pembuatan diet kuning telur dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Diponegoro Semarang. Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan di laboratorium Kimia Universitas Diponegoro Semarang. Pembuatan minyak atsiri cabe jawa dilakukan di Balitro Bogor. Pemeriksaan jumlah eritrosit dilakukan di laboratorium klinik swasta di Semarang.

3.1.2. Lingkup ilmu

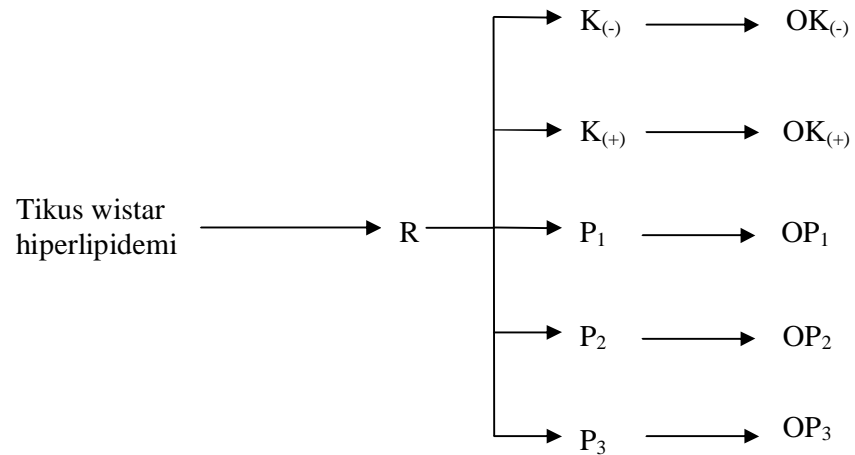
Penelitian ini termasuk dalam lingkup ilmu Biokimia.

3.2. Rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan lima kelompok, yaitu tiga kelompok eksperimental dan dua kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana. Penelitian dilakukan hanya pada *post test*, dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kontrol.

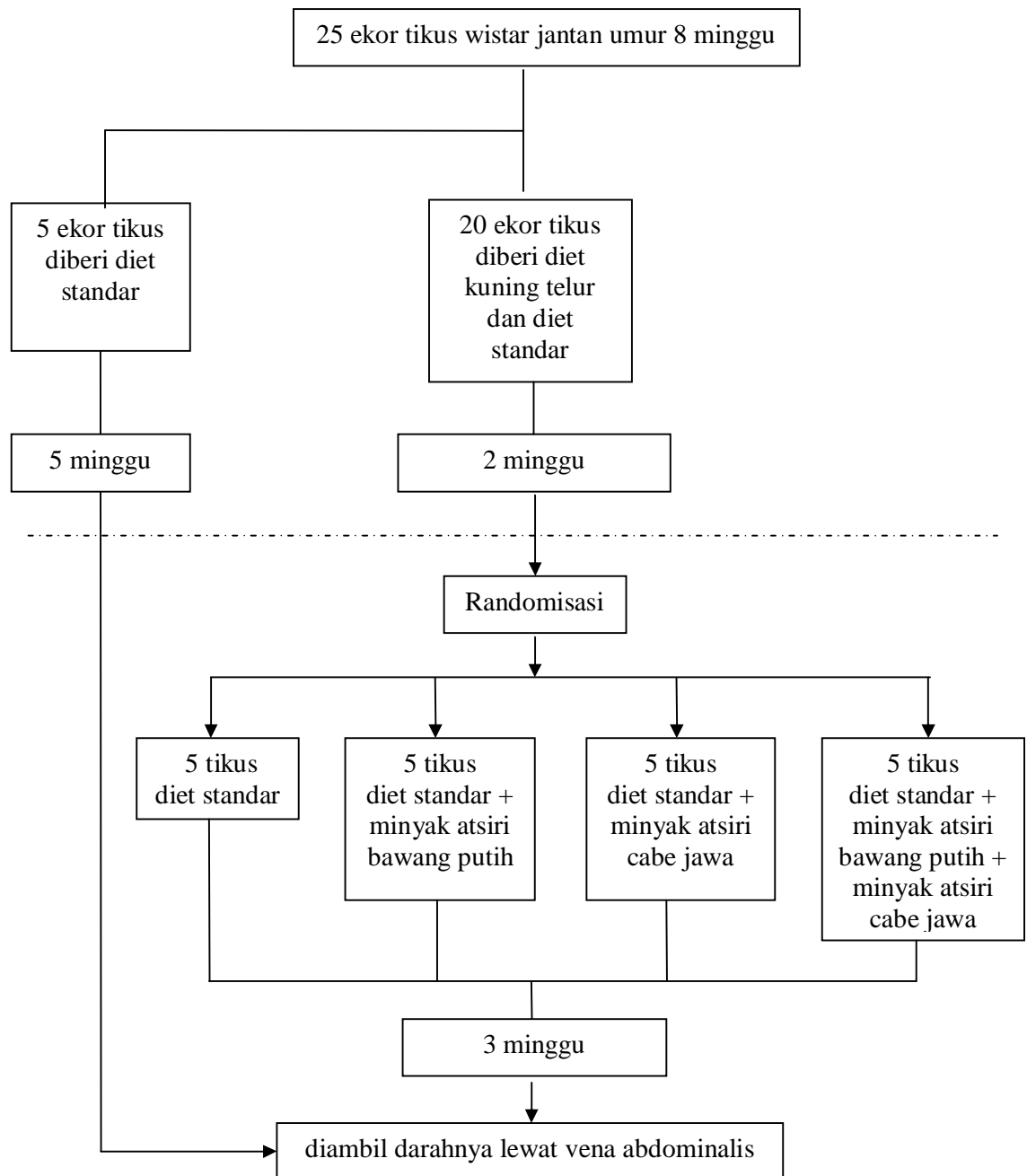
\

Rancangan penelitian:



Keterangan: R = Randomisasi, K(-) = Kontrol negatif (diet standar), K(+) = Kontrol positif (diet standar + kuning telur), P₁ = Perlakuan 1 (diet standar + kuning telur + minyak atsiri bawang putih), P₂ = Perlakuan 2 (diet standar + kuning telur + minyak atsiri cabe jawa), P₃ = Perlakuan 3 (diet standar + kuning telur + minyak atsiri bawang putih + minyak atsiri cabe jawa), OK(-) = Jumlah eritrosit pada K(-), OK(+) = Jumlah eritrosit pada K(+), OP₁ = Jumlah eritrosit pada P₁, OP₂ = Jumlah eritrosit pada P₂, OP₃ = Jumlah eritrosit pada P₃.

3.3. Alur penelitian



3.4. Subyek penelitian dan sampel

3.4.1. Subyek penelitian

Subyek penelitian ini adalah tikus wistar jantan.

3.4.2. Sampel

Penentuan besar sampel menurut rumus WHO yaitu besar sampel setiap kelompok minimal 5. Dalam penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 5 ekor setiap kelompok, sehingga jumlah sampel keseluruhan berjumlah 25 ekor. Tikus yang dipakai adalah tikus strain Wistar, yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram.

3.5. Variabel penelitian

3.5.1. Klasifikasi variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian minyak atsiri bawang putih dan cabe jawa.

b. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah eritrosit serum tikus wistar.

Skala kedua variabel tersebut adalah rasio.

3.5.2. Definisi operasional variabel

a. Tikus wistar normal didapatkan melalui pemberian diet standar selama penelitian sebagai kontrol negatif.

- b. Tikus wistar hiperlipidemia didapatkan melalui pemberian diet 1,5 gram kuning telur lewat sonde lambung setiap hari.
- c. Pemberian minyak atsiri bawang putih per sonde adalah pemberian minyak atsiri bawang putih dengan dosis 0,05 ml lewat sonde lambung setiap hari.
- d. Pemberian minyak atsiri cabe jawa per sonde adalah pemberian minyak atsiri cabe jawa dengan dosis 0,05 ml lewat sonde lambung setiap hari.

3.5.3. Kriteria inklusi

- a. Tikus wistar jantan.
- b. Berat badan tikus 150-200 gram pada usia 8 minggu.
- c. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat).

3.5.4. Kriteria eksklusi

- a. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram.
- b. Tikus mati dalam masa penelitian.
- c. Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung.

Bila ada tikus yang *drop-out*, diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi, sehingga jumlah tikus sesuai dengan yang diinginkan.

3.6. Alat dan bahan

3.6.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan, timbangan elektronik AND, spektrofotometer Metertex, sentrifuge, tabung reaksi, pipet *ependorf*, pipet mikrohematokrit, sonde lambung, ketel penyulingan, jarum suntik sekali pakai (*disposable syringe*).

3.6.2. Bahan

- a. Hewan coba berupa tikus jantan galur Wistar, dari PHP Yogyakarta, memenuhi kriteria inklusi. Mendapat pakan standar BR-2 dan minum secara *ad libitum*.
- b. Bahan perlakuan berupa :
 - Kuning telur yang dipisahkan dari putihnya dengan cara mengocok perlahan.
 - Minyak atsiri bawang putih yang didapat dengan teknik penyulingan uap.
 - Minyak atsiri cabe jawa yang didapat dengan teknik penyulingan uap.

3.7. Prosedur perlakuan sampel

3.7.1. Diet kuning telur

Pembuatan diet kuning telur dilakukan dengan cara: 1) memisahkan kuning telur dari putihnya, 2) membuat emulsi kuning telur dengan cara mengocok perlahan, 3) menimbang emulsi kuning telur. Diet kuning telur ditentukan sebesar 6,25 gram/kgBB/hari atau sekitar 1,5 gram/tikus dan diberikan lewat sonde lambung setiap hari.²⁸

3.7.2. Pemberian minyak atsiri bawang putih

Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan dengan cara penyulingan uap: 1) umbi bawang putih yang digunakan adalah umbi bawang putih segar sebanyak 1 kg, 2) dicuci hingga bersih kemudian dirajang, 3) dimasukkan dalam dandang dan disuling dengan uap, 4) suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar, 5) pemanasan dihentikan jika

sudah tidak terjadi lagi penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam), 6) penyaringan dengan eter dan natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air, 7) dipisah dari eter pada suhu kamar.

Dosis pemberian minyak atsiri bawang putih didapatkan dari perhitungan dosis sebagai berikut:

- Dosis terapi bawang putih pada manusia (70 kg): minyak atsiri yang didapat dari 1 sampai 4 gram bawang putih segar/kgBB/hari, setara dengan 70-280 gram/hari.
- Bawang putih segar mengandung kurang lebih 1% minyak atsiri atau sekitar 0,01 ml minyak atsiri dari 1 gram bawang putih segar. Jadi, dosis terapi minyak atsiri pada manusia setara dengan 0,7-2,8 ml minyak atsiri/hari.
- Konversi dosis pada manusia (70 kg) ke tikus Wistar (200 gram) adalah 0,018 (Tabel Laurence dan Bacharach, 1964).
- Jadi, dosis terapi minyak atsiri pada tikus Wistar adalah $0,018 \times (0,7-2,8 \text{ ml})$ yaitu 0,0126-0,0504 ml.
- Peneliti menggunakan dosis 0,05 ml/tikus/hari, kurang lebih setara dengan satu tetes minyak atsiri yang diambil dengan pipet.

3.7.3. Pemberian minyak atsiri cabe jawa

Pembuatan minyak atsiri cabe jawa dilakukan dengan cara penyulingan uap: 1) cabe jawa yang digunakan adalah cabe jawa segar sebanyak 1 kg, 2) dicuci hingga bersih kemudian dirajang, 3) dimasukkan dalam dandang dan disuling dengan uap, 4) suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar, 5) pemanasan dihentikan jika sudah tidak terjadi lagi

penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam), 6) penyaringan dengan eter dan natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air, 7) dipisah dari eter pada suhu kamar.

Dosis pemberian minyak atsiri cabe jawa didapatkan dari perhitungan dosis sebagai berikut:

- Dosis terapi cabe jawa pada manusia (70 kg) adalah 2,5-5 gram, yang berarti 175-350 gram.²⁹
- Minyak atsiri yang terkandung dalam cabe jawa adalah sebesar 1%.^{30,31} Jadi, dosis terapi minyak atsiri pada manusia adalah 1,75-3,5 gram, setara dengan 1,75-3,5 ml.
- Konversi dosis pada manusia (70 kg) ke tikus Wistar (200 gram) adalah 0,018 (Tabel Laurence dan Bacharach, 1964).
- Jadi, dosis terapi minyak atsiri pada tikus Wistar adalah $0,018 \times (1,75-3,5 \text{ ml})$ yaitu 0,0315-0,063 ml.
- Peneliti menggunakan dosis 0,05 ml/tikus/hari, kurang lebih setara dengan satu tetes minyak atsiri yang diambil dengan pipet.

3.7.4. Pemberian perlakuan

Penelitian menggunakan 25 ekor tikus Wistar. Sampel penelitian yang berjumlah 25 ekor tikus wistar dibagi dalam 5 kelompok, sehingga jumlah sampel tiap kelompok adalah 5 ekor. Ikhtisar perlakuan tiap kelompok adalah sebagai berikut :

Kelompok I :

- 5 minggu diberi diet standar.

Kelompok II :

- 2 minggu I diberi diet standar dan diet kuning telur.
- 3 minggu II diberi diet standar.

Kelompok III :

- 2 minggu I diberi diet standar dan diet kuning telur.
- 3 minggu II diberi diet standar dan minyak atsiri bawang putih.

Kelompok IV :

- 2 minggu I diberi diet standar dan diet kuning telur.
- 3 minggu II diberi diet standar dan minyak atsiri cabe jawa.

Kelompok V :

- 2 minggu I diberi diet standar dan diet kuning telur.
- 3 minggu II diberi diet standar dan kombinasi minyak atsiri dari bawang putih dan cabe jawa.

3.8 Prosedur pengukuran jumlah eritrosit

Teknik pemeriksaan dan pengukuran jumlah eritrosit serum didahului dengan pengambilan darah dengan jarum suntik (*disposable syringe*) lewat vena abdominalis sebanyak 0,5 sampai 1 cc,³² kemudian dilakukan penghitungan dengan menggunakan *blood analyzer*.

3.9. Analisis data

Data hasil penelitian yaitu jumlah eritrosit serum, setelah *diedit* dan *dikoding*, akan *dientri* ke dalam *file* komputer dengan menggunakan program

SPSS for Windows 15.0. Setelah dilakukan *cleaning*, akan dilakukan analisis statistik dengan urutan sebagai berikut:

3.9.1. Analisis deskriptif

Dilakukan analisis *univariat* dengan menghitung nilai *mean* dan standar deviasi terhadap jumlah eritrosit serum tiap kelompok, serta disajikan dalam bentuk tabel.

3.9.2. Analisis analitik

Data diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Sebaran data dianggap normal jika $p > 0,05$.

- a. Bila didapatkan distribusi data normal dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan statistik parametrik uji *One Way Anova*. Perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$. Kemudian, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.
- b. Bila didapatkan distribusi tidak normal dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan statistik non parametrik uji *Kruskal Wallis*. Perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$. Kemudian, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

BAB 4

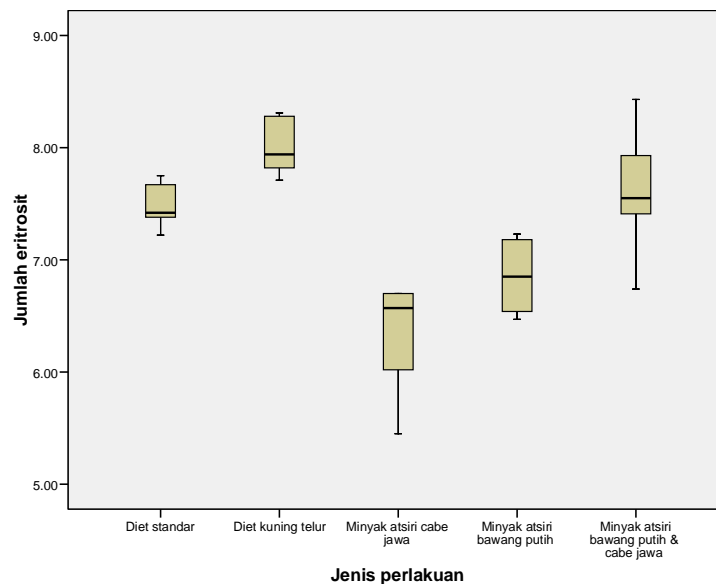
HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit serum tikus wistar yang diberi diet kuning telur. Penelitian ini dilakukan pada 25 ekor tikus wistar jantan dengan mengamati jumlah eritrosit serum pada masing-masing kelompok K(-), K(+), P₁, P₂ dan P₃.

Data hasil penelitian yaitu jumlah eritrosit serum, dilakukan analisis *univariat* dengan menghitung nilai *mean* dan standar deviasi terhadap jumlah eritrosit serum masing-masing kelompok.

Tabel 1. Hasil analisis data penelitian

Kelompok	N	Jumlah eritrosit serum (10 ⁶ /μl)	
		Mean	Standar Deviasi
Kontrol negatif (diet standar)	5	7,488	0,218
Kontrol positif (diet kuning telur)	5	8,012	0,271
Perlakuan 1 (Bawang putih)	5	6,854	0,351
Perlakuan 2 (Cabe jawa)	5	6,288	0,546
Perlakuan 3 (Bawang putih & Cabe jawa)	5	7,612	0,628



Gambar 1. Boxplot rerata jumlah eritrosit

Tabel 1 dan Gambar 1, memperlihatkan nilai rerata (*mean*) jumlah eritrosit serum (dalam $10^6/\mu\text{l}$) tikus wistar jantan pada kelompok kontrol negatif (diet standar), kontrol positif (diet kuning telur), perlakuan 1 (minyak atsiri bawang putih), perlakuan 2 (minyak atsiri cabe jawa), dan perlakuan 3 (minyak atsiri bawang putih & cabe jawa).

Berdasarkan tabel dan gambar tersebut, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol positif mempunyai rerata jumlah eritrosit serum ($8,012 \pm 0,271$) yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Rerata jumlah eritrosit serum kelompok perlakuan 3 ($7,612 \pm 0,628$) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 ($6,854 \pm 0,351$), kelompok perlakuan 2 ($6,288 \pm 0,546$), dan kelompok kontrol negatif ($7,488 \pm 0,218$).

Jumlah eritrosit serum diuji normalitasnya menggunakan uji *Shaphiro-Wilk*, didapatkan jumlah eritrosit serum terdistribusi normal ($p>0,05$). Uji homogenitas menunjukkan jumlah eritrosit serum homogen ($p=0,186$). Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova*, didapatkan nilai p sebesar 0,000 ($p<0,05$) yang berarti paling tidak terdapat perbedaan jumlah eritrosit serum yang bermakna antara dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

Tabel 2. Hasil analisis data perbandingan antar kelompok

p	K(-)	K(+)	P ₁	P ₂	P ₃
K(-)	-	0,070	0,031*	0,000*	0,655
K(+)	0,070	-	0,000*	0,000*	0,159
P ₁	0,031*	0,000*	-	0,052	0,012*
P ₂	0,000*	0,000*	0,052	-	0,000*
P ₃	0,655	0,159	0,012*	0,000*	-

*) bermakna; $p<0,05$

Tabel 2 memperlihatkan hasil uji *Post Hoc* diantara kelompok kontrol negatif (diet standar), kontrol positif (diet kuning telur), perlakuan 1 (minyak atsiri bawang putih), perlakuan 2 (minyak atsiri cabe jawa), dan perlakuan 3 (minyak atsiri bawang putih & cabe jawa).

Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan jumlah eritrosit serum yang bermakna dengan

kelompok perlakuan 1 ($p=0,000$) dan kelompok perlakuan 2 ($p=0,031$). Uji *Post Hoc* pada kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan jumlah eritrosit serum yang bermakna dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,000$), dan kelompok perlakuan 2 ($p=0,000$). Uji *Post Hoc* pada kelompok perlakuan 3 menunjukkan perbedaan jumlah eritrosit serum yang bermakna dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,012$), dan kelompok perlakuan 2 ($p=0,000$).

BAB 5

PEMBAHASAN

Dari penelitian ini diperoleh hasil bahwa jumlah eritrosit serum pada kelompok kontrol negatif (diet standar), kelompok kontrol positif (diet kuning telur), dan kelompok perlakuan 3 (diet kuning telur & kombinasi minyak atsiri bawang putih & minyak atsiri cabe jawa dengan dosis masing-masing 0,05 ml) lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan jumlah eritrosit serum pada kelompok perlakuan 1 (diet kuning telur & minyak atsiri bawang putih) maupun kelompok perlakuan 2 (diet kuning telur & minyak atsiri cabe jawa).

Kuning telur merupakan sumber gizi yang banyak mengandung karbohidrat, protein (termasuk asam amino esensial), lemak (asam lemak jenuh, asam lemak tak jenuh, dan kolesterol), vitamin (vitamin A, thiamin, riboflavin, niacin, asam folat, vitamin B₆, vitamin B₁₂, vitamin C, vitamin D, vitamin E), dan mineral (choline, besi, kalsium, fosfor, dan kalium).³³ Kandungan vitamin C dan vitamin E dalam kuning telur berperan sebagai antioksidan yang dapat menghambat terjadinya oksidasi LDL oleh radikal bebas, sehingga membran eritrosit akan terlindung dari peroksidasi lipid oleh LDL-oks.

Kuning telur mengandung pigmen yang disebut karotenoid. Dari penelitian sebelumnya, dinyatakan bahwa karotenoid kuning telur berfungsi sebagai antioksidan yang mencegah peroksidasi lipid jaringan,³⁴ termasuk membran eritrosit. Besi dan asam folat yang sangat diperlukan untuk sintesis

eritrosit dan merupakan faktor pematangan eritrosit,³⁵ juga banyak terkandung dalam kuning telur sehingga adanya kandungan besi dan asam folat tersebut dapat meningkatkan jumlah eritrosit dalam darah. Hal tersebut dapat menerangkan terjadinya peningkatan jumlah eritrosit pada kelompok kontrol positif, yang nilai reratanya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, meskipun perbedaan antara kedua kelompok tidak bermakna.

Bawang putih (*Allium sativum*) telah lama dikenal memiliki banyak efek positif bagi tubuh manusia, di antaranya adalah sebagai antioksidan, antibakteri, antikarsinogenik, dan antihiperlipidemia.^{11,12,13,14} Efek tersebut ditimbulkan oleh adanya kandungan yang bermanfaat bagi tubuh yang terdapat dalam bawang putih, seperti minyak atsiri. Bawang putih juga mempunyai komponen utama yang tidak berbau, yang disebut kompleks sativumin. Komponen aktif kompleks sativumin adalah *scordinine glycoside*, *thiocornine*, *scordinine A & B*, *alliin*, *creatinine*, *methionine*, *homocystein*, *vitamin B*, *vitamin C*, *niacin*, *s-adenocyl methionine*, *S-S bond (benzoyl thiamine disulfide)* dan *organic germanium*. Komponen tersebut akan diabsorpsi oleh glukosa dalam bentuk aslinya untuk mencegah proses dekomposisi. Dekomposisi kompleks sativumin akan menghasilkan bau khas yang tidak sedap dari *allyl sulfide*, *allyl disulfide*, *allyl mercaptane*, *alun allicin* (dan *alliin*). Hasil dekomposisi tersebut dapat menyebabkan iritasi, sehingga merusak membran eritrosit,¹³ sehingga jumlah eritrosit dalam darah akan berkurang.

Minyak atsiri cabe jawa mempunyai kandungan cavisin.³⁶ Cavisin merupakan isomer dari piperin. Cavisin mempunyai sifat yang mirip dengan

capsaisin yaitu senyawa yang terdapat dalam cabe merah. Capsaisin merupakan senyawa kimia yang menyebabkan terjadinya proses pembakaran dalam tubuh yang akan menghasilkan panas. Efek selanjutnya adalah terjadi peningkatan metabolisme tubuh dan peningkatan nafsu makan. Nafsu makan yang meningkat akan meningkatkan pemasukan jumlah kolesterol ke dalam tubuh. Peningkatan kadar kolesterol akan meningkatkan kadar LDL serum secara tidak nyata. Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa efek capsaicin terhadap penurunan kolesterol kurang efektif bila dibandingkan tanaman utuh.^{37,38}

Peninggian kadar kolesterol dalam darah (terutama kolesterol LDL) dapat mengakibatkan jejas pada endotel arteri, sehingga mengaktivasi atau menimbulkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel merupakan lesi aterosklerotik dini, dimana terjadi respon inflamasi yang merubah homeostasis normal endotel, menjadi endotel dengan permeabilitas dan adhesivitas yang meningkat terhadap lipoprotein, leukosit, platelet dan kandungan plasma lain, yang diperantarai NO, prostaglandin, PDGF, angiotensin II dan endotelin. Partikel LDL yang masuk ke intima arteri dapat mengalami oksidasi progresif menjadi LDL-oks (LDL termodifikasi) dan difagosit oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* di permukaan sel. Fagositosis menyebabkan terbentuknya peroksida lipid dan mempermudah akumulasi ester kolesterol yang menghasilkan pembentukan sel busa.^{5,39}

LDL-oks dapat mencetuskan terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas adalah zat kimia dengan elektron yang tidak berpasangan.¹ Radikal bebas (terutama radikal hidroksil) dapat merusak asam lemak, terutama asam lemak tak

jenuh (*polyunsaturated*) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel. Kerusakan jaringan akibat gangguan oksidatif yang didasari radikal bebas asam lemak dikenal sebagai peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid pada membran eritrosit akan mengakibatkan membran eritrosit lisis,⁵ sehingga jumlah eritrosit dalam darah akan berkurang.

Jumlah eritrosit pada kelompok perlakuan 3 (P_3) lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (P_1) maupun kelompok perlakuan 2 (P_2). Hal tersebut dimungkinkan akibat terjadinya interaksi antara kandungan kimia yang terkandung didalam kedua bahan tersebut yang saling mendukung dan menghasilkan efek sinergik, sehingga dapat menghambat penurunan jumlah eritrosit serum. Namun, mekanisme interaksi antara kedua komponen tersebut tidak diketahui secara pasti.

Hasil yang tidak sesuai dengan teori yang telah dikemukakan sebelumnya, dimungkinkan akibat: 1) pada penelitian ini tidak dilakukan penelitian dengan dosis yang bervariasi, hanya menggunakan dosis tunggal yang terbukti menimbulkan efek pada manusia, sehingga tidak diketahui dosis yang efektif untuk meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus wistar, 2) jangka waktu penelitian yang kurang panjang (3 minggu) menyebabkan jumlah eritrosit lebih cepat mengalami penurunan akibat kerusakan/lisis yang disebabkan oleh perlakuan yang diberikan, sedangkan masa pembentukan eritrosit membutuhkan waktu yang lebih lama, 3) jumlah sampel yang terbatas.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi minyak atsiri bawang putih dan minyak atsiri cabe jawa lebih berpengaruh/berperan dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit serum pada tikus yang diberi diet kuning telur dibandingkan dengan pemberian tunggal minyak atsiri bawang putih atau minyak atsiri cabe jawa pada tikus yang diberi diet kuning telur.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih banyak dan lama perlakuan yang diperpanjang untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak atsiri bawang putih dan cabe jawa terhadap jumlah eritrosit serum.

Penelitian lebih lanjut dengan dosis yang bervariasi juga perlu dilakukan untuk mengetahui dosis yang paling efektif untuk menimbulkan efek antioksidan dalam menghambat penurunan jumlah eritrosit serum akibat radikal bebas dalam darah yang ditimbulkan oleh diet tinggi lemak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Media Medika Muda. Pengaruh pemberian suplemen melatonin terhadap kadar kolesterol total, LDL dan HDL wistar yang diberi diet kuning telur. 2006; 2:59-63.
2. Prasetyo A, Sadhana U, Miranti IP. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena (IV) dan diet kuning telur '*intermiten*' (penelitian pendahuluan). Media Medika Indonesia 2000; 35(3):149-57.
3. Arief S. Radikal bebas. 2009 [cited 2009 Jan 24]. Available from: <http://www.pediatrik.com/buletin/06224113572-x0zu6l.doc>.
4. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Maharani DA, editor. Kapita Selekta Hematologi. Edisi 4. Jakarta: EGC; 2005. p. 11-24.
5. Lautan J. Radikal bebas pada eritrosit dan leukosit. 2009 [cited 2009 Jan 24]. Available from: <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13Radikalbebaspadaeritrositdanleukosit116.pdf>.
6. Ross R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. 1999;340;115-126 [cited 2009 Jan 24]. Available from: <http://www.nejm.org/content/full?340/2/115>.
7. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Kandungan kimia sembilan tanaman obat unggulan. 2004 [cited 2009 Jan 20]. Available from: http://www.biogen.litbang.deptan.go.id/berita_artikel/serbi_2006_kandungan_kimia_tanaman_obat.php.
8. Anonim. Mengenal lebih jauh cabe jamu. 2007 Dec [cited 2009 Jan 17]. Available from: <http://ditjenbun.deptan.go.id/web/rempahbun/rempah/index.php>.
9. Emmyzar, Rostiana O, Sofiana B. Standar prosedur operasional Budidaya cabe jawa. Balitro: Bogor. Circular 2004; 10:1-5.
10. Januwati M, Yuhono JT. Budidaya cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl*). Balitro: Bogor. 2003; 7:1-3.

11. World Healthlest Foods. Chili pepper, dried. 2008 [cited 2008 Apr 29]. Available from:
<http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=29>.
12. Anonim. Garlic. 2009 Jan [cited 2009 Jan 17]. Available from:
<http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic>.
13. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nutrition Journal. 2002, 1:4 [cited 2009 Jan 24]. Available from:
<http://nutrironj.com/content/1/1/4>.
14. Sunarto P, Susetyo BP. Pengaruh Garlic terhadap penyakit Jantung Koroner. 23 September 2007 [cited 2009 Jan 17]. Available from:
<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/09PengaruhGarlic102.pdf/09PengaruhGarlic102.html>.
15. World Healthlest Foods. Garlic. 2008 [cited 2008 Apr 29]. Available from:
<http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=60>.
16. Syamsih IS, Tajudin. Khasiat dan manfaat bawang putih raja antibiotik alami. Agromedia Pustaka: Bandung. 2003: 1-12.
17. Syukuri S. Kimia Dasar 3. ITB Bandung. 1999: 731.
18. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Bani AP. Sikumbang TM. N, editor. Biokimia Harper. 25th ed. Jakarta: EGC; 2003.p.254-281.
19. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Suyono J, Sadikin V, Mandera LI, editor. Biokimia Kedokteran Dasar. Jakarta: EGC; 2000. p. 513-532.
20. Brown CT. Penyakit Atheroskerotik Koroner. In Price SA, Wilson LM. Hartanto H, editor. Patofisiologi : Konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi 6. Jakarta: EGC; 2005. p. 576-612.
21. Anonim. High Density Lipoprotein. 2009 [cited 2009 Jan 22]. Available from:
http://en.wikipedia.org/wiki/High_density_lipoprotein.
22. Barter PJ, Nicholls S, Rye K, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory Properties of HDL. Circulation Research. 2004;95;764-772 [cited 2009 Jan 18]. Available from:
<http://circres.ahajournals.org/cgi/full/95/8/764>.
23. Anonim. Low Density Lipoprotein. 2009 Jan [cited 2009 Jan 22]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Low_density_lipoprotein.

24. Adam JMF. Dislipidemia. In : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Marcellus S, Setiati S, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid III. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. p.1948-1954.
25. Lawrence GS. Implikasi klinis disfungsi endotel dan radikal bebas. Jurnal Media Nusantara. 2004;25:94-102 [cited 2009 Jan 24]. Available from: http://med.unhas.ac.id/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=164.
26. Diana S. Minyak sereh. 2009 [cited 2009 Jan 24]. Available from: <http://www1.bpkpenabur.or.id/jelajah/08/biologi1.htm>.
27. Guenther, Ernest. Cara memproduksi Minyak Atsiri. In: Guenther Ernest. Minyak Atsiri jilid I. Jakarta: Penerbit UI; 1987. p. 132-137.
28. Christina DA, Jarot S, Kustiwinarni. Pengaruh pemberian angkak terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) [serial online]. 2009 [cited 2009 Mar 15];36(2).
29. Apotik Hidup. Cabe Jawa [Document on the Internet]. 2007 Juli 17 [cited 2009 Mar 15]. Available from: <http://mylutfi.wordpress.com/category/apotek-hidup/>.
30. Winarto WP. Cabe Jawa si Pedas Berkhasiat Obat. Jakarta: AgroMedia Pustaka; 2008. p. 12.
31. Henriette's Herbal Homepage. Piper Longum. [Document on the Internet]. 2009 [cited 2009 Mar 15]. Available from: <http://www.henriettesherbal.com/eclectic/bpc1911/piper-offi.html>.
32. Prasetyo A. Pengaruh injeksi inisial adrenalin dan diet kuning telur terhadap kadar lipid dan kejadian lesi atherosklerotik pada dinding aorta abdominalis tikus wistar [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro. 2002.
33. Riana A. Kuning telur. 2000 [cited 2009 Agustus 3]. Available from: <http://www.asiamaya.com/nutrients/telurkuning.htm>.
34. Murwani R. Kuning telur bukan sekedar warna. 2003 Juli 21 [cited 2009 Agustus 3]. Available from: <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid1058758795>.
35. Anonim. Anemia. 2008 December 3 [cited 2009 Agustus 10]. Available from: http://bumikupijak.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=59.

36. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Food chemistry. 3rd ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2004. p. 979.
37. Capsicum therapeutic powerhouse and herbal catalyst. Pleasant Grove: Woodland Publishing Inc. [serial online] 1996 [cited 2009 June 12]; Available from:
<http://www.nutraceutical.com/educate/pdf/capsicum.pdf-96k>.
38. Media Medika Muda. Aspek seluler dan molekuler Atherosclerosis. 2006; 2:1-9.

Lampiran 1. Analisis data

Tabel 3. Hasil pemeriksaan jumlah eritrosit serum tikus wistar (dalam $10^6/\mu\text{l}$)

Sampel	Kelompok Kontrol negatif (K-)	Kelompok Kontrol positif (K+)	Kelompok Perlakuan 1 (P ₁)	Kelompok Perlakuan 2 (P ₂)	Kelompok Perlakuan 3 (P ₃)
Tikus 1	7.75	7.71	6.85	6.02	7.55
Tikus 2	7.38	7.94	6.54	5.45	7.41
Tikus 3	7.67	8.28	7.23	6.70	7.93
Tikus 4	7.22	8.31	7.18	6.70	8.43
Tikus 5	7.42	7.82	6.47	6.57	6.74

Keterangan: K(-) (diet standar)

K(+) (diet standar + diet kuning telur)

P₁ (diet kuning telur + minyak atsiri bawang putih 0,05 ml)

P₂ (diet kuning telur + minyak atsiri cabe jawa 0,05 ml)

P₃ (diet kuning telur + minyak atsiri bawang putih 0,05 ml + minyak
atsiri cabe jawa 0,05 ml)

Tabel 4. Hasil validitas data

Case Processing Summary

Jenis perlakuan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah eritrosit	Diet standar	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Diet kuning telur	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Minyak atsiri cabe jawa	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Minyak atsiri bawang putih	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Tabel 5. Hasil analisis deskriptif data

Descriptives

Jenis perlakuan				Statistic	Std. Error
Jumlah eritrosit	Diet standar	Mean		7.4880	.09744
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7.2175	
			Upper Bound	7.7585	
		5% Trimmed Mean		7.4883	
		Median		7.4200	
		Variance		.047	
		Std. Deviation		.21788	
		Minimum		7.22	
		Maximum		7.75	
		Range		.53	
		Interquartile Range		.41	
		Skewness		.129	.913
		Kurtosis		-1.829	2.000
	Diet kuning telur	Mean		8.0120	.12122
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7.6754	
			Upper Bound	8.3486	
		5% Trimmed Mean		8.0122	
		Median		7.9400	
		Variance		.073	
		Std. Deviation		.27105	
		Minimum		7.71	

Minyak atsiri cabe jawa	Maximum		8.31	
	Range		.60	
	Interquartile Range		.53	
	Skewness		.224	.913
	Kurtosis		-2.732	2.000
	Mean		6.2880	.24424
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5.6099	
		Upper Bound	6.9661	
	5% Trimmed Mean		6.3117	
	Median		6.5700	
	Variance		.298	
	Std. Deviation		.54614	
	Minimum		5.45	
	Maximum		6.70	
Minyak atsiri bawang putih	Range		1.25	
	Interquartile Range		.97	
	Skewness		-1.139	.913
	Kurtosis		-.100	2.000
	Mean		6.8540	.15712
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6.4178	
		Upper Bound	7.2902	
	5% Trimmed Mean		6.8544	
	Median		6.8500	
	Variance		.123	
	Std. Deviation		.35133	
	Minimum		6.47	
	Maximum		7.23	
	Range		.76	
	Interquartile Range		.70	
Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	Skewness		.002	.913
	Kurtosis		-2.852	2.000
	Mean		7.6120	.28065
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6.8328	
		Upper Bound	8.3912	
	5% Trimmed Mean		7.6150	
	Median		7.5500	
	Variance		.394	
	Std. Deviation		.62755	
	Minimum		6.74	

Maximum	8.43	
Range	1.69	
Interquartile Range	1.11	
Skewness	-.155	.913
Kurtosis	.364	2.000

Tabel 6. Uji normalitas data

Tests of Normality

Jenis perlakuan		Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah eritrosit	Diet standar	.223	5	.200(*)	.939	5	.659
	Diet kuning telur	.239	5	.200(*)	.884	5	.330
	Minyak atsiri cabe jawa	.297	5	.171	.830	5	.138
	Minyak atsiri bawang putih	.223	5	.200(*)	.881	5	.315
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	.174	5	.200(*)	.990	5	.979

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 7. Uji *One Way Anova*

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah eritrosit			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.715	4	20	.186

ANOVA

Jumlah eritrosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.253	4	2.313	12.351	.000
Within Groups	3.746	20	.187		
Total	12.999	24			

Tabel 8. Uji *Post Hoc***Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Jumlah eritrosit

LSD

(I) Jenis perlakuan	(J) Jenis perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Diet standar	Diet kuning telur	-.52400	.27371	.070	-1.0949	.0469
	Minyak atsiri cabe jawa	1.20000*	.27371	.000	.6291	1.7709
	Minyak atsiri bawang putih	.63400*	.27371	.031	.0631	1.2049
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	-.12400	.27371	.655	-.6949	.4469
Diet kuning telur	Diet standar	.52400	.27371	.070	-.0469	1.0949
	Minyak atsiri cabe jawa	1.72400*	.27371	.000	1.1531	2.2949
	Minyak atsiri bawang putih	1.15800*	.27371	.000	.5871	1.7289
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	.40000	.27371	.159	-.1709	.9709
Minyak atsiri cabe jawa	Diet standar	-1.20000*	.27371	.000	-1.7709	-.6291
	Diet kuning telur	-1.72400*	.27371	.000	-2.2949	-1.1531
	Minyak atsiri bawang putih	-.56600	.27371	.052	-1.1369	.0049
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	-1.32400*	.27371	.000	-1.8949	-.7531
Minyak atsiri bawang putih	Diet standar	-.63400*	.27371	.031	-1.2049	-.0631
	Diet kuning telur	-1.15800*	.27371	.000	-1.7289	-.5871
	Minyak atsiri cabe jawa	.56600	.27371	.052	-.0049	1.1369
	Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	-.75800*	.27371	.012	-1.3289	-.1871
Minyak atsiri bawang putih & cabe jawa	Diet standar	.12400	.27371	.655	-.4469	.6949
	Diet kuning telur	-.40000	.27371	.159	-.9709	.1709
	Minyak atsiri cabe jawa	1.32400*	.27371	.000	.7531	1.8949
	Minyak atsiri bawang putih	.75800*	.27371	.012	.1871	1.3289

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 2. Prosedur penyulingan minyak atsiri

A. Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan dengan cara penyulingan uap:

1. Umbi bawang putih yang digunakan adalah umbi bawang putih segar sebanyak 1 kg.
2. Umbi dicuci hingga bersih kemudian dirajang.
3. Dimasukkan dalam dandang dan disuling dengan uap.
4. Suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar.
5. Pemanasan dihentikan jika sudah tidak terjadi lagi penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/ air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam).
6. Penyaringan dengan eter dan natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air.
7. Dipisah dari eter pada suhu kamar.

B. Pembuatan minyak atsiri cabe jawa dilakukan dengan cara penyulingan uap:

1. Cabe jawa yang digunakan adalah cabe jawa segar sebanyak 1 kg.
2. Dicuci hingga bersih kemudian dirajang.
3. Dimasukkan dalam dandang dan disuling dengan uap.
4. Suhu penyulingan diatur sedemikian rupa sehingga destilat dapat keluar.
5. Pemanasan dihentikan jika sudah tidak terjadi lagi penambahan volume pada lapisan minyak atsiri/ air sudah menjadi jernih (\pm 5-6 jam).
6. Penyaringan dengan eter dan natrium sulfat dehidrat untuk menarik sisa air.
7. Dipisah dari eter pada suhu kamar.